

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表2003-511349

(P2003-511349A)

(43) 公表日 平成15年3月25日 (2003.3.25)

(51) Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テマコード [*] (参考)
A 6 1 K 47/42		A 6 1 K 47/42	4 C 0 7 6
9/26		9/26	4 C 0 8 6
31/136		31/136	4 C 2 0 6
31/337		31/337	4 H 0 4 5
31/4375		31/4375	
審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 75 頁) 最終頁に続く			

(21) 出願番号 特願2000-611711(P2000-611711)
 (86) (22) 出願日 平成12年4月13日 (2000.4.13)
 (85) 翻訳文提出日 平成13年10月12日 (2001.10.12)
 (86) 国際出願番号 P C T / U S 0 0 / 0 9 9 5 3
 (87) 国際公開番号 W O 0 0 / 0 6 1 7 8 8
 (87) 国際公開日 平成12年10月19日 (2000.10.19)
 (31) 優先権主張番号 0 9 / 2 9 1 , 2 3 4
 (32) 優先日 平成11年4月13日 (1999.4.13)
 (33) 優先権主張国 米国 (U S)

(71) 出願人 ファニン バイオサイエンス、インク。
 アメリカ合衆国 テキサス州 77074、ヒューストン、サウスウエスト フリーウェイ、7322
 (72) 発明者 クー、ジンギヤ
 中華人民共和国 430070 ウーハン、ウーチャン、ロウ ユー ロード、3 シャープ
 (74) 代理人 弁理士 鈴木 崇生 (外4名)

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 薬剤担体としてのポリ (ジペプチド)

(57) 【要約】

新規ポリペプチド薬剤担体が提供される。ここで、グルタミン酸とアスパラギン酸またはグルタミン酸/アラニンもしくはグルタミン酸/アスパラギンもしくはグルタミン酸/グルタミンもしくはグルタミン酸/グリシンを含むポリペプチドを、薬剤の溶解度および/またはインビボにおけるその治療効力を改良する目的で薬剤と結合する。例示した実施例は、バクリタキセルとポリ (グルタミン酸/アスパラギン酸) ポリペプチドとの結合およびそのインビボでの前立腺癌の治療における効力を包含する。

【請求項9】 前記第二のアミノ酸がアスパラギン酸、アラニン、アスパラギン、グルタミンおよびグリシンからなる群より選ばれた2種以上のアミノ酸からなる請求項8に記載の治療用化合物。

【請求項10】 前記ポリペプチド薬剤担体部分が約70重量%ないし約75重量%のグルタミン酸と、約25重量%ないし約30重量%の第二のアミノ酸とを含有する請求項1に記載の治療用化合物。

【請求項11】 前記第二のアミノ酸がアスパラギン酸である請求項10に記載の治療用化合物。

【請求項12】 前記第二のアミノ酸がアスパラギン酸、アラニン、アスパラギン、グルタミンおよびグリシンからなる群より選ばれた2種以上のアミノ酸からなる請求項11に記載の治療用化合物。

【請求項13】 少なくとも2つの異なる薬剤部分を含有する請求項1に記載の治療用化合物。

【請求項14】 多数の薬剤部分を含有する請求項1に記載の治療用化合物

。

【請求項15】 前記薬剤部分が治療用化合物の約10重量%ないし約60重量%を構成する請求項1に記載の治療用化合物。

【請求項16】 前記ポリペプチド薬剤担体部分が治療用化合物の約40重量%ないし約90重量%を構成する請求項1に記載の治療用化合物。

【請求項17】 前記薬剤部分が治療用化合物の約20重量%ないし約50重量%を構成する請求項1に記載の治療用化合物。

【請求項18】 前記薬剤部分が治療用化合物の約20重量%ないし約40重量%を構成する請求項1に記載の治療用化合物。

【請求項19】 前記アミノ酸がL型、D型またはL型とD型のラセミ混合物でありうる請求項1に記載の治療用化合物。

【請求項20】 前記薬剤部分がパクリタキセルであって、治療用化合物の約24重量%ないし約30重量%であり、
前記担体部分が約70重量%のグルタミン酸と約30重量%のアスパラギン酸を含有し、および

少なくとも1つのポリペプチド薬剤担体部分であって、全ポリペプチド薬剤担体の50重量%を越え約90重量%までのグルタミン酸と、全ポリペプチド薬剤担体の50重量%未満から約10重量%までの、アスパラギン酸、アラニン、アスパラギン、グルタミンおよびグリシンからなる群より選ばれた第二のアミノ酸とを有する部分

を含有し、前記薬剤担体部分は約20,000ダルトンないし約50,000ダルトンの分子量を有し、前記薬剤部分は前記担体部分に共有結合する治療用化合物の治療上有効な量を投与する工程

を含む、症状の処置方法。

【請求項29】 前記第二のアミノ酸がアスパラギン酸である請求項28に記載の方法。

【請求項30】 前記第二のアミノ酸がアスパラギン酸、アラニン、アスパラギン、グルタミンおよびグリシンからなる群より選ばれた2種以上のアミノ酸からなる請求項28に記載の方法。

【請求項31】 前記薬剤部分が抗腫瘍薬である請求項28に記載の方法。

【請求項32】 前記薬剤部分がパクリタキセルであり、前記状態が前立腺癌、乳癌、卵巣癌、結腸癌、白血病、リンパ腫、肺癌および肝臓癌からなる群より選ばれたものである請求項28に記載の方法。

【請求項33】 前記状態が前立腺癌であり、前記薬剤部分がパクリタキセルである請求項28に記載の方法。

を開示している。前記特許は、ポリマー基質の中に包み込まれているか取り込まれている薬剤の薬剤担体としてポリアスパラギン酸および/ またはポリグルタミン酸のポリマーを使用することを想定している。前記特許は、薬剤とポリマーの共有結合体を開示も教示も示唆もしていない。さらに、前記特許の記載のほとんどは、アスパラギン酸およびグルタミン酸のホモポリマーに向けられており、これら2種類のアミノ酸を組み合わせることを目的としていない。

【0005】

1992年2月11日にMyers らに対して付与された、「細胞傷害性薬剤結合物および腫瘍細胞へのそれらの送達」という名称の米国特許第5,087,616号は、1種類以上の細胞傷害性分子、例えば、ダウノマイシンを結合した生分解性ポリマー担体の使用を開示している。生分解性ポリマー担体は、例えば、ポリグルタミン酸のホモポリマーであると明記されている。しかし、この参考文献には、ジペプチドのコポリマー担体に結合した薬剤の使用は明らかに開示も教示も示唆もされていない。

【0006】

Piper らによる、「メトトレキセートのポリ(γ-グルタミル)結合体の合成方法」と題された1983年のJ. Med. Chem. の論文は、2～3個のグルタミン酸単位を結合したメトトレキセートの使用を開示している。本論文は、グルタミン酸とアスパラギン酸のジペプチドポリマーや、グルタミン酸と、アラニン、アスパラギン、グルタミンまたはグリシンとのジペプチドポリマーを開示も教示も示唆もしていない。

【0007】

Zuninoらによる、「ポリL-アスパラギン酸を結合したダウノルビシンの抗腫瘍活性」と題された1982年のInt. J. Cancerの論文は、ポリアスパラギン酸のホモポリマーに結合したダウノルビシンを開示している。本論文には、「ポリペプチドへの(ダウノルビシンの)結合は、薬剤の毒性を顕著に低下させたが、薬剤の効力は僅かに低減しただけであった」との記載がある。「ダウノルビシン-ポリ-L-アスパラギン酸結合体は、白血病モデルでは、ドキソルビシンの抗腫瘍活性に匹敵する抗腫瘍活性を示したが、固形腫瘍モデルにおいては、ドキソルビシン

Stellaらに対して付与された、「タキソール誘導体、その薬学的組成物およびその調製方法」という名称の米国特許第4,960,790号は、アミノ酸（例えば、グルタミン酸）などに共有結合した抗腫瘍剤タキソールを開示している。しかし、前記特許は、大きなポリペプチド、ましてや、グルタミン酸とアスパラギン酸、またはグルタミン酸とアラニン、アスパラギン、グルタミンもしくはグリシンを含む、本発明に係るポリペプチドの使用を開示も教示も示唆もしていない。

【0012】

最後に、Karlson らによる、「ポリ- β -ベンジル-L-アスパラギン酸のらせん方向 (The Helical Sense of Poly- β -benzyl-L-aspartate)」と題された1960年のJ. Am. Chem. Soc. の論文は、 γ -ベンジル-L-グルタミン酸と β -ベンジル-L-アスパラギン酸から派生した一連のコポリマーの物理学的特徴を検討している。しかし、本論文は、そのようなコポリマーの生体内における使用、ましてや、それらの抗腫瘍薬との結合物の使用については、開示も教示も示唆もしていない。

【0013】

上記の技術が示すように、長年にわたって当技術分野では、抗腫瘍剤などの難溶性の薬剤を可溶化しようと試みることが必要だと考えられてきた。そして、そのような努力の中で、例えば、ポリグルタミン酸およびポリアスパラギン酸のホモポリマーからなるポリペプチドを使用するなど、さまざまな方法によってこの目的を達成しようと当技術分野では試みられてきた。しかしながら、以下でさらに詳しく検討するように、本発明に係る、生体内での溶解度を高めるための薬剤結合ジペプチドは、本技術分野において所望のものでありながら、従来の技術によっては予想も示唆もされていなかった。

【0014】

本発明の一つの実施態様を示すために、本発明に係るポリペプチド（例えば、グルタミン酸およびアスパラギン酸を含むポリ（ジペプチド）と、抗腫瘍剤のパクリタキセルとの結合物を作製して、薬剤送達用賦形剤として使用した。そして、本発明に係る結合物が、生体内で、例えば、非結合薬剤、および従来技術の既知の担体（例えば、グルタミン酸およびアスパラギン酸のホモポリマー）を用い

ansin)、およびエピポドフィロトキシン(epipodophyllotoxin)など、これらの薬剤の中には、コルヒチン結合部位でチューブリンと相互作用を起こして、微小管の重合を阻害し、それによって細胞休止分裂中期(cellar rest metephase)をもたらす。一方、パクリタキセルは、微小管の集合を促進するように作用し、非常に安定してはいるが、機能しないポリマーを生じさせ、増殖している細胞を休止させるための有糸分裂を引き起こす。Schiff, P.B., Horwitz, S.B., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1980, 77, 1561-1565; Schiff, P.B., Fant, J., Horwitz, S.B., Nature (London) 1980, 283, 665-667; Rowinsky, E.K., Cazenave, L.A., Donehower, R.C. JCN, J. Natl. Cancer Inst. 1990, 82, 1247-1259; Imbert, T.F. Biochimie, 1998, 80, 207-222; Snadler, E.S., Friedman, D. J., Mustafa, M.M., Winick, N.J., Bowman, W.P., Buchanan, G.R. Cancer 1997, 79(5), 1049-1054。

【0018】

当技術分野では、クレモフォア(cremophor)で処方したパクリタキセルが、乳癌、卵巣癌、結腸癌、および肺癌の治療に用いられている(Rowinsky, E.K., Donehower, R.C. Cancer Res. 1998, 58, 2404-2409; Holmes, F.A., Kudelka, A.P., Kavanagh, J.J., Huber, M.H., Ajani, J.A., Valero, V.: G.I. Georg, T.T., Chen I. Ojima および D.M. Vyas (編) 1995, 31-57 より; Cortes, J.E., Padur, R.J., Clin. Oncology, 1995, 13 (10), 2643-2655)。

【0019】

しかしながら、パクリタキセルの有効性はいくらか見られるにもかかわらず、顆粒球減少症および体重減少などの副作用が顕著に見られる(Rowinsky, E.K. と Donehower, R.C. 概説: パクリタキセル(タキソール)(Paclitaxel (Taxol)), New Eng. J. Med. 1995, 332, 1004-1014)。パクリタキセルが水に溶けにくいことにより薬剤の静脈内投与を困難にしていることが、当技術分野で周知である。

【0020】

さらに、より重要なのは、パクリタキセルは、乳癌と卵巣癌において有効性を示すが、前立腺癌の治療には効果がないと、当技術分野において知られているこ

具体的な態様において、前記薬剤部分は、例えば、パクリタキセル、エピポドフィロトキシン (epipodophyllotoxin)、ビンクリスチン、ドセタキセル、ダウノマイシン、ドキソルビシン、ミトキサントロン、トポテカン (topotecan)、ブレオマイシン、ゲムシタビン、フルダラビン (fludarabine) および5-FU DRからなる薬剤群より選ばれる。

【0028】

好ましい態様において、前記薬剤部分はパクリタキセルである。

【0029】

具体的な態様において、前記ポリペプチド薬剤担体部分は、約50重量%ないし約90重量%のグルタミン酸と、約10重量%ないし約50重量%の、アスパラギン酸もしくはアラニンもしくはアスパラギンもしくはグルタミンもしくはグリシンもしくはそれらの組合せを含有し、より好ましくは、約60重量%ないし約80重量%のグルタミン酸と、約20重量%ないし約40重量%の、アスパラギン酸もしくはアラニンもしくはアスパラギンもしくはグルタミンもしくはグリシンもしくはそれらの組合せを含有し、最も好ましくは、約70重量%ないし約75重量%のグルタミン酸と、約25重量%ないし約30重量%の、アスパラギン酸もしくはアラニンもしくはアスパラギンもしくはグルタミンもしくはグリシンもしくはそれらの組合せを含有する。

【0030】

別の態様において、前記治療用化合物は、互いに同一でなくてもよい少なくとも2つの薬剤部分を含有する。

【0031】

別の態様において、前記治療用化合物は、多数の薬剤部分を含有する。

【0032】

さらに別の態様において、前記治療用化合物の薬剤部分は、治療用化合物の約10重量%ないし約60重量%を構成し、より好ましくは治療用化合物の約20重量%ないし約50重量%を構成し、もっとも好ましくは治療用化合物の約20重量%ないし約40重量%を構成する。さらに、前記ポリペプチド薬剤担体部分は、治療用化合物の約40重量%ないし約90重量%を構成してもよく、より好

好ましい態様において、前記薬剤部分は、パクリタキセルである。

【0039】

具体的な態様において、前記ポリペプチド薬剤担体部分は、約50重量%ないし約90重量%のグルタミン酸を含有し、より好ましくは約60重量%ないし約80重量%のグルタミン酸を含有し、もっとも好ましくは約70重量%ないし約75重量%のグルタミン酸を含有し、そして、約10重量%ないし約50重量%のアスパラギン酸もしくはアラニンもしくはアスパラギンもしくはグルタミンもしくはグリシンもしくはそれらの組合せを含有し、より好ましくは約20重量%ないし約40重量%のアスパラギン酸もしくはアラニンもしくはアスパラギンもしくはグルタミンもしくはグリシンもしくはそれらの組合せを含有し、もっとも好ましくは約25重量%ないし約30重量%のアスパラギン酸もしくはアラニンもしくはアスパラギンもしくはグルタミンもしくはグリシンもしくはそれらの組合せを含有する。

【0040】

本発明におけるアラニン、アスパラギン、グルタミンおよび／またはグリシンの役割をさらに考慮すると、下記のこと注目される。本出願の時点で、好ましい態様は、グルタミン酸とアスパラギン酸のポリ（ジペプチド）ポリマーを使用すると考えられる。しかしながら、特に制限されるものではないが、アラニン、アスパラギン、グルタミンおよびグリシンを含むアスパラギン酸に類似するいかなるアミノ酸も本発明のポリ（ジペプチド）中のアスパラギン酸と置換することができるとも考えられる。とにかく結合されることを望むものではないが、本出願の時点で、本発明のポリ（ジペプチド）の重要な側面は、グルタミン酸骨格に関連すると考えられる。グルタミン酸が前記ポリ（ジペプチド）中に存在する限り、アスパラギン酸は他方のアミノ酸として供してもよく、アラニン、アスパラギン、グルタミンおよびグリシン等のアスパラギン酸に類似するいかなるアミノ酸を使用してもよい。これらのアミノ酸は、アスパラギン酸全体と置換してもよく、アスパラギン酸の一部と置換してもよく、混合してもよい。本発明のポリ（ジペプチド）を多数与えると、それぞれがグルタミン酸を有し、その他はアスパラギン酸もしくはアラニンもしくはアスパラギンもしくはグルタミンもしくはグ

好ましい態様において、前記状態は前立腺癌であり、前記治療薬はパクリタキセルである。

【0045】

さらになお要約すると、本発明は、グルタミン酸とアスパラギン酸とから構成される特定のポリペプチドが難溶性の薬剤等の薬剤の送達用の予想を超えた良好な担体を創出するという発見に関する。実例となる実施例は、抗腫瘍薬を含む。より具体的には、そして例示すると、本発明は、約70重量%のグルタミン酸と約30重量%のアスパラギン酸とを含有し、薬剤に共有結合した約26,000ないし約30,000の分子量のポリ（グルタミン酸／アスパラギン酸）ペプチドの合成および使用に関する。そのような薬剤は、例えば、難溶性薬剤および／または抗腫瘍薬であってもよい。好ましい態様の一例は、抗腫瘍薬パクリタキセルの結合である。好ましい態様において、パクリタキセル等の結合した薬剤の濃度は、全結合体の約20重量%ないし約40重量%であってもよい。

【0046】

以下にさらに詳細に記載されるように、本発明は、本発明の結合体（ポリーグルタミン酸／アスパラギン酸ポリペプチドおよびポリーグルタミン酸／アラニン、アスパラギン、グルタミン、グリシン）の使用が、薬剤と共有結合した場合に予想を超えた良好な生体内での特性をもたらすことを発見した。これらの特性は、グルタミン酸およびアスパラギン酸のホモポリマーを含む他のポリペプチド等の当技術分野において公知の他の薬剤担体への薬剤の結合に関して見出された特性よりも優れている。具体的には、そして例示すると、本発明のある1つの使用は、前立腺癌の生体内での処置を有効ならしめるためにパクリタキセルを本発明に係るペプチドに結合させることを含む。以下にさらに詳細に記載されるように、パクリタキセルと公知の従来技術のポリペプチド担体との結合または未結合のパクリタキセルの使用は、前立腺癌の生体内での処置に効果がない。しかしながら、パクリタキセルとユニークな本発明のコポリマーとの結合は、動物における前立腺癌のこれまでにない初めて観察された処置をもたらす。

【0047】

図面は、必ずしも一定の比率で表されてはおらず、発明の一定の特徴を、比率

のに十分な量である。

【0053】

「症状」という語は、治療上有効な量の治療用化合物を投与することによって生じる効果を求めている動物における症状、状態、疾患、異常、失調、疾病、などを意味する。症状には、癌、新生物性疾患、腫瘍、および、前立腺腫瘍および/または前立腺癌を含む前立腺の症状があるが、これらに制限されない。

【0054】

例えば、「症状を処置する」という語において使用される「処置」という語は、少なくとも、処置効果を誘発するために治療上有効な量の治療用化合物を投与することを意味する。必ずしも、「治癒する」ことを意味しないが、症状を有する生体に投与すると、症状に対して少なくとも最小限の生理学的効果を示すことを意味する。例えば、処置は、薬剤を投与することを含み、その薬剤が存在することによって、投与を受ける動物の生理に変化をもたらす可能性がある。

【0055】

「ペプチド」、「ポリペプチド」、「ジペプチド」、「コポリマー」、「ポリ(グルタミン酸/アスパラギン酸)」（および、これらの変異すべて）、および「本発明に係るペプチド」という語は、本明細書においてさらに定義されている本発明のペプチドを意味する（そして、例えば、アスパラギン酸およびグルタミン酸を含むポリペプチド、および/または、アスパラギン酸と、アラニン、アスパラギン、グルタミンおよびグリシンとのいずれかの組み合わせを含むポリペプチドを含む）。

【0056】

投薬量および調合

本発明の治療用化合物（化合物、薬剤、結合体など）は、さまざまな症状を処置するために調合し、投与することができる。これらは、個別の治療活性成分として、または治療活性成分を組み合わせたものとして、薬剤とともに使用するために利用可能な通常の方法によって投与することができる。これらは、単独で投与したり、または、選択した投与経路および標準的な薬学上の慣行に基づいて選択された薬学的担体とともに投与することができる。

ル、デンプン、セルロース誘導体、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸などの粉末担体を含むことができる。同様の希釈剤を用いて、圧縮錠剤を作ることができる。錠剤とカプセル剤はどちらも、何時間にもわたって薬剤の持続的な放出を行わせるための徐放性製品として製造することができる。圧縮錠剤は、不快な味を隠し、錠剤を外気から守るために糖衣またはフィルムで覆うか、胃腸管で選択的に分解させるために腸溶性コーティングを施すことができる。

【0062】

経口投与用の液体剤形は、患者がより摂取しやすくなるよう、着色剤や香料を含むことができる。

【0063】

一般的に、水、適当な油脂、食塩水、水性デキストロース（グルコース）、および関連する糖溶液、およびグリコールが、非経口溶液に適した担体である。非経口投与するための溶液は、治療用化合物（薬剤など）の水溶性塩、適当な安定化剤、および、必要があれば、緩衝用物質を含むことができる。重硫酸ナトリウム、硫化ナトリウム、またはアスコルビン酸などの抗酸化剤は単独、または併用すると適当な安定化剤になる。クエン酸、およびその塩、およびEDTAナトリウムも使用される。さらに、非経口溶液は、塩化ベンザルコニウム、メチルパラベンまたはプロピルパラベンおよびクロロブタノールなどの保存剤を含むことができる。適当な薬学的担体は、本分野における標準的な参考文献であるレミントンの薬剤科学 (Remington's Pharmaceutical Science) に記載されている。

【0064】

さらに、標準的な薬学的方法を用いて、作用持続時間を調節することができる。これらは、当技術分野において周知されており、制御放出製剤を含み、適当な高分子、例えば、ポリマー、ポリエステル、ポリアミノ酸、ポリビニルピロリドン、エチレンビニルアセテート、メチルセルロース、カルボキシメチルセルロース、または硫酸プロタミンを含むことができる。取り込み法だけでなく高分子の濃度も、制御放出するために調節することができる。さらに、薬剤は、ポリエステル、ポリアミノ酸、ヒドロゲル、ポリ（乳酸）またはエチレンビニルアセテートコポリマーのようなポリマー材料の粒子の中に取り込むこともできる。取り込

ペプチド薬剤担体部分を含み、前記薬剤部分が担体部分に共有結合しており、前記ポリペプチド薬剤担体部分が、グルタミン酸、および、アスパラギン酸、アラニン、アスパラギン、グルタミン、グリシン、および、それらの組み合わせたものを含む治療用化合物に関する。薬剤部分は、抗腫瘍薬、抗炎症剤、心臓血管系薬、糖尿病薬、代謝作用薬、痛みの治療薬、およびその他の種類の薬剤で、本発明に係る担体による送達が望まれるものよりなる群から選ぶことができる。薬剤部分は、パクリタキセル、エピポドフィロトキシン (epipodophyllotoxin)、ビンクリスチン、ドセタキセル、ダウノマイシン、ドキソルビシン、ミトキサントロン、トポテカン (topotecan)、ブレオマイシン、ゲムシタビン、フルダラビン (fludarabine) および5-FUDRからなる薬剤の群より選択される。好適な実施態様において、薬剤部分はパクリタキセルであろう。

【0072】

処置されるべき症状は、前立腺癌、乳癌、卵巣癌、結腸癌、白血病、リンパ腫、肺癌、および肝臓癌などであるが、これには全く限定されない。例えば、制限を加える意味ではないが、パクリタキセルを本発明に係るペプチドと結合させて、例えば、前立腺癌、乳癌、卵巣癌、結腸癌、白血病、リンパ腫、肺癌、および肝臓癌を処置するために用いることができる。

【0073】

さらに、具体的な実施態様において、ポリペプチドの薬剤担体部分は、約50重量%ないし約90重量%のグルタミン酸、および約10重量%ないし約50重量%のアスパラギン酸もしくはアラニンもしくはアスパラギンもしくはグルタミンもしくはグリシンもしくはこれらを組み合わせたものを含み、より好ましくは、約10重量%ないし約60重量%のグルタミン酸、および約20重量%ないし約50重量%のアスパラギン酸もしくはアラニンもしくはアスパラギンもしくはグルタミンもしくはグリシンもしくはこれらを組み合わせたものを含み、最も好ましくは、約20重量%ないし約40重量%のグルタミン酸、および約25重量%ないし約30重量%のアスパラギン酸もしくはアラニンもしくはアスパラギンもしくはグルタミンもしくはグリシンもしくはこれらを組み合わせたものを含む。

【0074】

【0078】

さらに、具体的な実施態様において、ポリペプチドの薬剤担体部分は、約50重量%ないし約90重量%のグルタミン酸、より好ましくは、約60重量%ないし約80重量%のグルタミン酸、最も好ましくは、約70重量%ないし約75重量%のグルタミン酸を含み、そして、約10重量%ないし約50重量%のアスパラギン酸またはアラニンまたはアスパラギンまたはグルタミンまたはグリシンまたはこれらを組み合わせたもの、より好ましくは、約20重量%ないし約40重量%のアスパラギン酸またはアラニンまたはアスパラギンまたはグルタミンまたはグリシンまたはこれらを組み合わせたもの、最も好ましくは、約25重量%ないし約30重量%のアスパラギン酸またはアラニンまたはアスパラギンまたはグルタミンまたはグリシンまたはこれらを組み合わせたものを含むことができる。

【0079】

さらに、本発明の別の側面は、少なくとも1つの薬剤部分および少なくとも1つのポリペプチド薬剤担体部分を含む治療用化合物であって、前記薬剤部分が担体部分に共有結合しており、前記ポリペプチド薬剤担体部分が、グルタミン酸と、第二のアミノ酸として、アスパラギン酸、アラニン、アスパラギン、グルタミン、グリシンおよびそれらを組み合わせたものからなる群から選ばれるアミノ酸とを含む治療用化合物を治療上有効な量投与する工程を含む、症状を処置する方法に関する。具体的な実施態様において、薬剤部分は、抗腫瘍薬、抗炎症剤、心臓血管系薬、糖尿病薬、代謝作用薬、痛みの治療薬、およびその他の種類の薬剤で、本発明に係る担体による送達が望まれるものよりなる群から選ぶことができる。薬剤部分は、例えば、パクリタキセル、エピポドフィロトキシン (epipodophyllotoxin)、ビンクリスチン、ドセタキセル、ダウノマイシン、ドキソルビシン、ミトキサントロン、トポテカン (topotecan)、ブレオマイシン、ゲムシタビン、フルダラビン (fludarabine) および5-FUDRからなる薬剤の群から選択することもできる。一つの実施態様において、ポリペプチドの薬剤担体部分は、約50重量%ないし約90重量%のグルタミン酸、より好ましくは、約60重量%ないし約80重量%のグルタミン酸、最も好ましくは、約70重量%ないし約75重量%のグルタミン酸を含み、そして、約10重量%ないし約50重量%のアスパラギン酸また

シン (epipodophyllotoxin) 、ビンクリスチン、ドセタキセル、ダウノマイシン、ドキソルビシン、ミトキサントロン、トポテカン (topotecan) 、ブレオマイシン、ゲムシタビン、フルダラビン (fludarabine) および5-FUDRがあるが、これらに制限されない。

【0082】

さらに、本発明は、アスパラギン酸とグルタミン酸、またはアラニンとグルタミン酸、またはアスパラギンとグルタミン酸、またはグルタミンとグルタミン酸、またはグリシンとグルタミン酸からなる反復モノマーを含むポリペプチドを使用することに厳密に制限されていると必ずしも解すべきではない。これと同時に、好適態様は、グルタミン酸とアスパラギン酸からなるポリマーであるから（そして、実際、好適態様の詳細が、下記の具体的実施例に示されている）、これを、発明の全範囲の限定的な実施例であると考えべきではない。例えば、本発明に係るポリマー薬剤担体は、反復モノマーポリペプチドであっても、組み合わせ混合物であったとしても、ポリグルタミン酸/ アスパラギン酸（またはアラニン、またはアスパラギン、またはグルタミン、またはグリシン）だけからなるものである必要はないと考えられる。実際、特記されたアミノ酸（例えば、グルタミン酸およびアスパラギン酸（またはアラニン、またはアスパラギン、またはグルタミン、またはグリシン）は、ポリペプチド担体全体である割合を占めているということもある。さらに、担体の少なくとも一部が、本発明に係るポリペプチドの組み合わせからできているとすれば、この担体は、特記されたアミノ酸以外の成分を含むこともある。

【0083】

さらに、本発明は、ポリマーにおける「野生型」アミノ酸の使用だけに限定されるものではない。むしろ、本発明は、本質的に同一の機能および/ または構造をもつポリペプチドを生じさせるこれらのアミノ酸の構造に対するいくつかの変更を含んでいる。アミノ酸は、D 型アミノ酸、L 型アミノ酸、またはD 型およびL 型アミノ酸の混合物であろう。さらになお、本発明の薬剤結合ペプチドは、各ポリペプチドが、100 %グルタミン酸/ アスパラギン酸（またはアラニン、またはアスパラギン、またはグルタミン、またはグリシン）を含んでいるものだけで

【0086】

実施例1

ポリ（ジペプチド）ポリペプチドの合成

以下の節では、好適であるが、制限的でない、本発明に係るポリグルタミン酸 / アスパラギン酸（またはポリグルタミン酸 / アラニン、またはポリグルタミン酸 / アスパラギン、またはポリグルタミン酸 / グルタミン、またはポリグルタミン酸 / グリシン）のコペプチドを合成するための実施態様、およびそのようなペプチドの性質について報告するものである。一般的に、本発明に係るポリ（グルタミン酸 / アスパラギン酸）ジペプチドは生分解性ポリマーである。下記に記載するように、ポリペプチドは、溶解度を高め、および / または薬剤の生体内での送達性を強化するために、特定の薬剤に結合した形で合成することができる。このような例では、前記ポリペプチドは、「プロポリマー薬剤送達用賦形剤」とみなされて、粉末状に調製することができよう。粉末を滅菌してから、この薬剤結合体は、静脈内注射に使用することができる。本発明に係るポリマー-薬剤結合体は、例えば、非結合の薬剤だけを使用するときと較べて、より効果的で毒性が低い徐放性および長時間にわたる血液循環を提供する。上記で検討したように、本発明に係る結合を行なうことのできる薬剤の例には、パクリタキセル、エピポドフィロトキシン（epipodophyllotoxin）、ビンクリスチン、ドセタキセル、ダウノマイシン、ドキソルビシン、ミトキサントロン、トポテカン（topotecan）、ブレオマイシン、ゲムシタビン、フルダラビン（fludarabine）および5-FUDRが含まれるが、これらに制限されるものではない。

【0087】

例えば、一つの実施態様において、本発明に係るポリ（グルタミン酸 / アスパラギン酸）ポリペプチドは、約70%のグルタミン酸と30%のアスパラギン酸を含み、約26,000ないし30,000ダルトンの分子量をもつ。したがって、本発明に係るコポリマーは、必ずしも、均一で反復したジペプチドを含む必要はないことが解る。このようなジペプチドは、グルタミン酸とアスパラギン酸が50対50の含有量になるからである。むしろ、この範囲には多くの変異が想定される。例えば、好適態様は、70%のグルタミン酸と30%のアスパラギン酸を含んでもよい。しかし

ポリマーを沈殿させた。生成物をメタノールで洗浄して、減圧下で乾燥させたところ、8 gmが得られた(3:7 のバッチで)。既知の方法にしたがって、HBr を用いて脱ベンジル化を行なった(Idlelson, M., Blout, E.R., J. Am. Chem. Soc. 1958, 80, 2387-2393)。HBr 処理した後、水溶液を蒸留水に対して透析し、ミリポアフィルターでろ過してから凍結乾燥した。典型的な平均分子量は、26,000~30,000ダルトンであった。合成の概要図を図1Aに示した。同様の手法を用いて、グルタミン酸およびアラニン、グルタミン酸およびアスパラギン、グルタミン酸およびグルタミン、グルタミン酸およびグリシン、およびグルタミン酸と、アスパラギン酸、アラニン、アスパラギン、グルタミンおよびグリシンからなる群から選ばれた1個以上のアミノ酸のポリマーを調製した。

【0090】

アミノ酸アナライザー(PE/ABI 420A)(カリフォルニア州フォスターシティ)を用いて、アスパラギン酸とグルタミン酸の実際の組成比を決定した。簡単に説明すると、HCl(6 N)によって、150℃で75分間、ポリ(ジペプチド)を加水分解した。加水分解産物をPVDF膜に負荷して、メタノール(30%)とHCl(0.1 N, 0.2 ml)を加えてアミノ酸を抽出した。フェニルイソチオシアネートによって事前にカラムを誘導体化して用い、アミノ酸濃度を測定した。ポリ(グルタミン酸/アスパラギン酸)のアミノ酸分析結果を図1Bに示す。

【0091】

実施例3

ポリ(グルタミン酸/アスパラギン酸)ポリペプチドを薬剤担体に用いた抗癌剤送達

本発明の1つの実施態様を示すために、本発明に係るポリペプチドを用いて抗腫瘍剤パクリタキセルの結合体を作製して、薬剤送達用媒体として用いた。そして、本発明に係る結合体が、生体内で、例えば、非結合の薬剤、および、従来技術による既知の担体に結合した薬剤(例えば、グルタミン酸およびアスパラギン酸のホモポリマー)よりも優れた生物学的特性と治療特性をもつことが明らかになった。以下のデータは、例えば、抗腫瘍薬パクリタキセルを本発明に係るポリマーに一本発明に係るポリマーのみに一結合させると、前立腺癌の処置など、思

ミカルシフト (δ) は、パクリタキセルでは4.68 (二重項(d)) (図2B) であり、パクリタキセル結合体では4.91(d) (図2D) であった。

【0095】

実施例 5

ポリ (グルタミン酸/ アスパラギン酸) パクリタキセル結合体におけるパクリタキセル濃度の測定

紫外光 (UV) 吸収におけるパクリタキセルとその結合体との違いを比較するため、これらの誘導体のUV走査結果(Beckman DU-640 スペクトロメトリー、Fullerton, CA) を記録した (図3A、3B、4A、4B)。メタノール中でのパクリタキセルのさまざまな濃度 (2、6、14、18 $\mu\text{g/ml}$) における吸光度を、232 nmの紫外光によって測定した。次に、標準曲線を作成した (図5A)。パクリタキセル結合体のポリマーを水に溶かして、この溶液の等量液の吸光度を測定した。結合体におけるパクリタキセル濃度を、標準曲線から外挿して測定した (図5B)。

【0096】

実施例 6

ポリ (グルタミン酸/ アスパラギン酸) パクリタキセル結合体のクロマトグラム分析

ポリ (グルタミン酸/ アスパラギン酸) パクリタキセル結合体の純度を明らかにするため、高速液体クロマトグラフィー (HPLC) と薄層クロマトグラフィー (TLC) を使用した。HPLCについては、Nova-PakC-18逆相カラム (3.9 \times 15 mm) を用いた (図6、7、8、9A、9B、9C)。化合物は同じ濃度になっており、メタノール/ 水 (2:1) によって、流速a ml/ 分で溶出した。TLC については、シリカゲルで被覆したプレートを使用した。生成物は、クロロホルム/ メタノール (7:3) で溶出した。

【0097】

実施例 7

ポリ (グルタミン酸/ アスパラギン酸) パクリタキセル結合体の溶解度と安定性

結合体の溶解度を、25℃の食塩水 (0.9 %) の中で測定した。25℃のリン酸緩衝食塩水 (pH 7.4) の中で安定性を測定した。さまざまな時点で試料の等量液を

500,000/マウス、皮下注射 (s.c.)) を接種した。腫瘍が500 mm³ になったとき、結合体かパクリタキセルを40~160 mg/kg (結合体) または80 mg/kg (パクリタキセル) の投与量でマウスに投与した。比較のために、本発明者らの生成物と他の水溶性パクリタキセル産物と比較する並行実験を行ない、マウスに、投与量を40~160 mg/kg にして、ポリ (グルタミン酸/ アスパラギン酸) パクリタキセル結合体を投与した。腫瘍の容積と体重を60日間毎日記録した。腫瘍容積は、[長さ (l) ×幅 (w) ×厚さ (h)] /2で測定した。体重が15%減少したら化学剤による毒性効果が表れたとみなした。これらの結果を図10と11に示した。パクリタキセルをポリペプチドに結合したものは、抗卵巣癌効果を実質的に高めていることを示しているが、本発明のパクリタキセル結合体と、ポリグルタミン酸をもつ従来技術のホモポリマーに結合したパクリタキセルとの間には一見したところ違いが見られなかった。

【0101】

実施例 1.1

乳癌動物モデル

メスの無胸腺ヌードマウス (NCr5-nu/mu) の乳房の脂肪パッドにヒト乳癌細胞 (MDA 435、10⁶ 細胞/ マウス、n=5/投与量) をs.c 接種した。15~20日後、腫瘍容積が250 mm³ になってから、ヒト乳癌腫瘍をもつマウスに、結合体かパクリタキセルを60~100 mg/kg (結合体) または60 mg/kg (パクリタキセル) という投与量にしてマウスに投与した。腫瘍の容積と体重を60日間毎日記録した。腫瘍容積は、[長さ (l) ×幅 (w) ×厚さ (h)] /2で測定した。体重が15%減少したら化学剤による毒性効果が表れたとみなした。これらの結果を図12に示す。非結合のパクリタキセル、従来技術の癌ポリグルタミン酸ホモポリマーに結合したパクリタキセル、および本発明に係る結合体のすべてが、ヒト乳癌に対し生体内において有効であった。

【0102】

実施例 1.2

前立腺癌動物モデル

オスの無胸腺ヌードマウス (NCr-nu/nu) の乳房の脂肪パッドに2種類のヒト

ルまたはポリマー結合体によって生じたアポトーシスの進行を、顕微鏡で観察して記録した。

【0105】

実施例14

パクリタキセルのポリ（グルタミン酸/ アスパラギン酸）結合体の合成

分子量の範囲が26,000～30,000であるポリ（グルタミン酸/ アスパラギン酸）を調製した。ポリ（ジペプチド）は、アミノ酸アナライザーで測定したところ（図1C）、70%グルタミン酸と30%アスパラギン酸を含む。パクリタキセルのポリ（グルタミン酸/ アスパラギン酸）に対する結合は、薬剤：ポリマーのモル比率が1:4 になるようにして、N,N-ジメチルホルムアミドを用いて行なった。パクリタキセル、結合体、およびポリ（ジペプチド）のUVスキャンの結果が図3 および4 に示されている。標準曲線は図5 に示されている。結合体中の典型的なパクリタキセル濃度は、20～40%にわたる。

【0106】

実施例15

ポリ（グルタミン酸/ アスパラギン酸）パクリタキセル結合体のクロマトグラム分析

生成物のHPLC分析によって、パクリタキセル、結合体、およびポリマーの保持時間は、図6～8 に示すように、4.2 分、1.0 分、および1.0 分であることが示された。結合体とポリマーの間に違いが見られないが、結合体の吸光性は、ポリマー単独よりもかなり高くなった。混合すると、既知量のパクリタキセルで、異なった保持時間が記録された（図9A、9B、9C）。TLC では、パクリタキセルと結合体の遅延係数（Rf）は、0.8 と0.1 であった。

【0107】

実施例16

ポリ（グルタミン酸/ アスパラギン酸）パクリタキセル結合体の溶解度と安定性

結合体の溶解度は、食塩水において20 mg/mlであると測定されたが、これは、パクリタキセルよりも3,000 倍優れていた。安定性測定の結果、結合体の有効半減期は、25℃のリン酸緩衝食塩水（pH 7.4）の中で18日間であることが分かった

顕微鏡観察を用いると、パクリタキセルまたはポリマー結合体のいずれかで処置を行なった後、ポリマー結合体によって惹起されるアポトーシスプロセスが、パクリタキセルよりも顕著であった。

【0111】

まとめると、新規のポリ（ジペプチド）に基づく水溶性パクリタキセルが開発されている。溶解度が20 mg/mlまで上昇する。リン酸緩衝食塩水（pH 7.4）におけるインビトロで安定な半減期は18日間である。この製品は、容易にスケールアップすることができ、滅菌粉末として調製される。パクリタキセルと比較すると、ほとんど毒性が見られず、より高い初期負荷投薬量を静脈内投与することができる。この製品は、卵巣癌、乳癌および前立腺癌のモデルにおいて有意な抗癌作用を示した。ヒト前立腺癌をもつヌードマウスでは、本製品は、前立腺癌に対して治療効果を示さなかったポリ（グルタミン酸）パクリタキセル結合体および非結合のパクリタキセルとは対照的に効果がある。

【0112】

本明細書に記載されている特許および刊行物はすべて、本発明が属する技術分野における当業者の技術水準を示すものである。特許および刊行物はすべて、ここにおいて、それぞれの刊行物を具体的かつ個別に参照として組み込むと表記した場合と同一程度に、参照として本明細書に組み入れられる。

【0113】

当業者は、本発明が、目的を実施するために応用することができ、本来の発明と同じような目的と利点を得ることできることを容易に理解されよう。本明細書に記載した、方法、手順、処理、分子および特定の化合物は、好適な実施態様を現在代表し、例示するものであって、本発明の範疇を制限するものと意図されていない。当業者は、それらに対する変更、およびその他の用途を想到されようが、それらは、本発明の精神に含まれるものであり、請求の範囲によって特定されているものである。

【図面の簡単な説明】

【図1】

図1Aは、本発明に係るポリ（グルタミン酸/ アスパラギン酸）の合成の概要を

分析結果を示す。

【図8】

図8は、結合していない本発明に係るジペプチド（ポリ（グルタミン酸/ アスパラギン酸））のHPLC分析の結果を示す。

【図9】

図9Aは、ポリ（グルタミン酸/ アスパラギン酸）- パクリタキセル結合体と非結合パクリタキセルの混合物のHPLCクロマトグラムを示す。

図9Bは、パクリタキセル- ポリ（グルタミン酸/ アスパラギン酸）ポリペプチドのHPLC 3D クロマトグラムを示す。

図9Cは、非結合パクリタキセルと本発明に係るパクリタキセル- ポリ（グルタミン酸/ アスパラギン酸）ポリペプチド結合体のHPLC 3D クロマトグラムを示す。

図9Dは、ポリ（グルタミン酸/ アスパラギン酸）- パクリタキセル結合体の徐放特性を示す。

図9Eは、パクリタキセル- ポリ（グルタミン酸/ アスパラギン酸）結合体の有効期間の判定結果を示す。

図9Fは、パクリタキセルと結合体のインビトロ細胞培養アッセイの結果を示す。

図9Gは、インビトロで、ヒト前立腺癌細胞（PC3）に対する、結合体およびパクリタキセルの細胞傷害性（IC-50）を示す。

【図10】

図10は、卵巣癌をもつマウスに対する非結合のパクリタキセルと較べた場合の、本発明に係るパクリタキセル- ポリ（グルタミン酸/ アスパラギン酸）結合体の生体内での抗腫瘍活性を示す。

【図11】

図11は、マウスの生体内における卵巣癌に対するパクリタキセル- ポリグルタミン酸（ホモポリマー）、および非結合のパクリタキセルの生体内での抗腫瘍活性を示す。

【図12】

パクリタキセルと比較した場合のポリ（グルタミン酸/ アスパラギン酸）を結合したパクリタキセルの抗腫瘍活性を示す。

図17B は、ヒト前立腺癌をもつヌードマウス（処置後7 日目のマウス）に対する、非結合のパクリタキセル、およびポリグルタミン酸ホモポリマーに結合したパクリタキセルと比較した場合のポリ（グルタミン酸/ アスパラギン酸）を結合したパクリタキセルの抗腫瘍活性を示す。

図17C は、ヒト前立腺癌をもつヌードマウス（処置後22日目のマウス）に対する、非結合のパクリタキセル、およびポリグルタミン酸ホモポリマーに結合したパクリタキセルと比較した場合のポリ（グルタミン酸/ アスパラギン酸）を結合したパクリタキセルの抗腫瘍活性を示す。

【☒ 1 B】

モル比率レポート

Sample ID: 01402017 (Initiated 1/15/99 6:14am) BASELINE CORRECTED

Turntable Position:	5.8	Sampling Interval:	1.0 sec
Data Start:	3.00 min	Samples In Run:	72
Data Duration:	16.00 min	Operator ID:	
Peak Ht Threshold:	3000 uAU	Int. Std. Amt:	250 pmol

Calibration File:	14JANCAL	(Initiated 1/15/99 9:44am)
Reference Time:	0.00 min	(No ISTD Peak Specified)
Reference Offset 1:	0.03 min	
Reference Offset 2:	0.00 min	

Integration Interval: 0.0 to 16.0 min

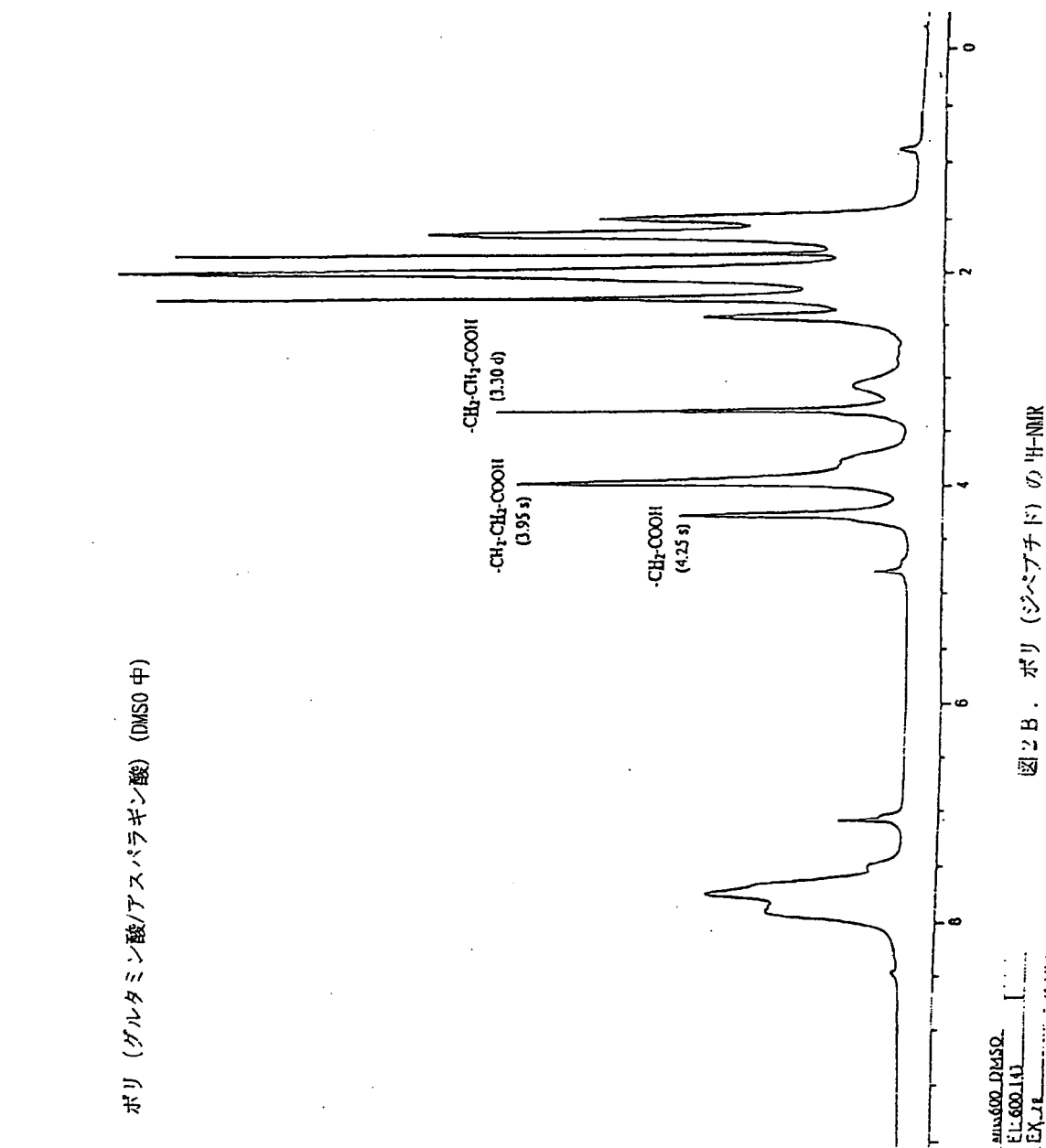
PEAK ID	RET. TIME min	PMOL BY HEIGHT	PMOL correc. INT STD	MOL X
ASX	2.22	1054.53	0.00	30.74 (aspartic acid)
GLX	2.65	2375.83	0.00	59.26 (glutamic acid)

TOTAL PMOLS RECOVERED 3430.36

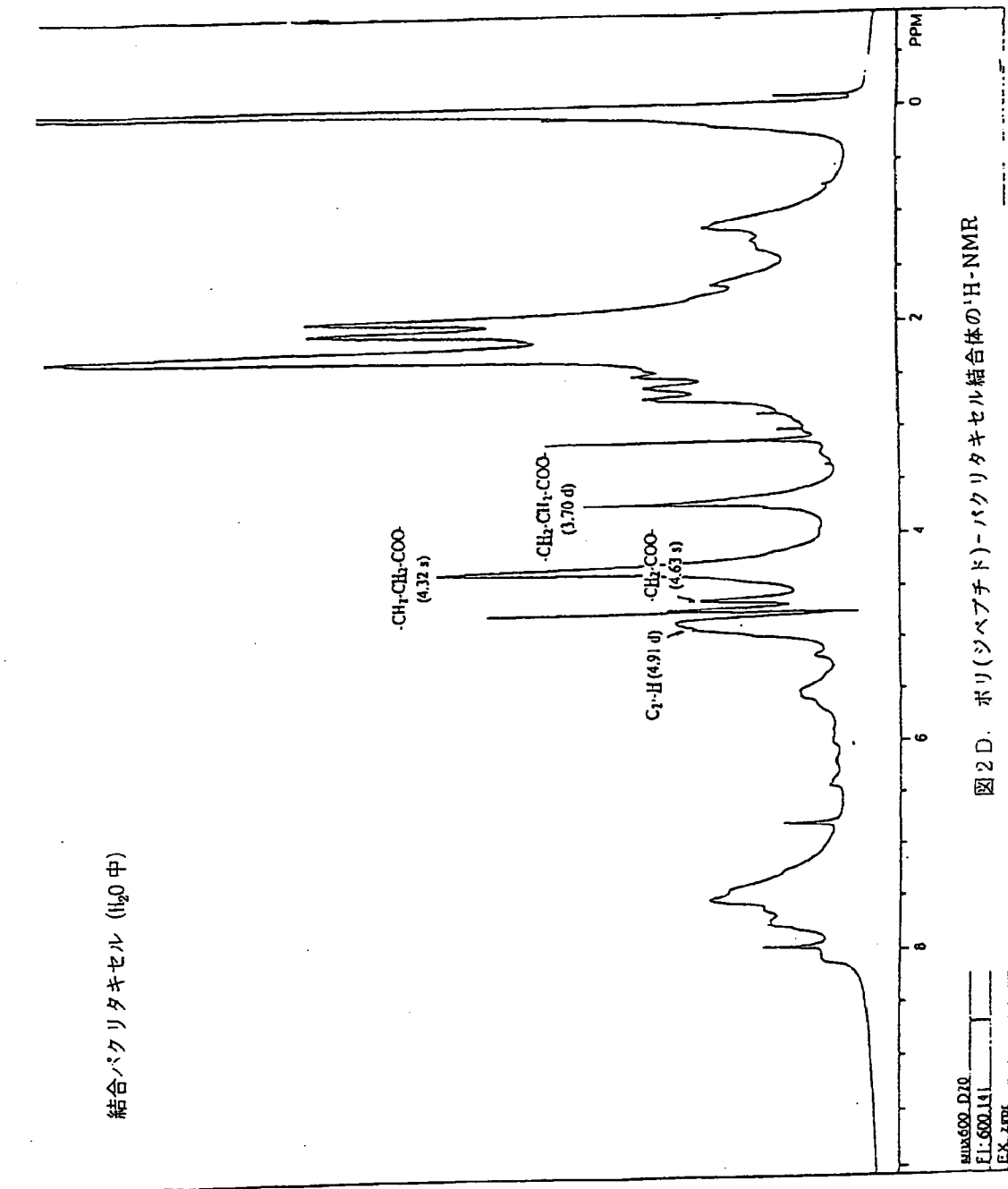
Minimum Peak Threshold: 3000 uAU (55 peaks below threshold)
 (9 peaks found)
 (2 peaks matched)

ポリ (グルタミン酸/アスパラギン酸) のアミノ酸分析

【図2B】

図2B. ポリ (ジペプチド) の $^1\text{H-NMR}$

【図2D】



【図4】

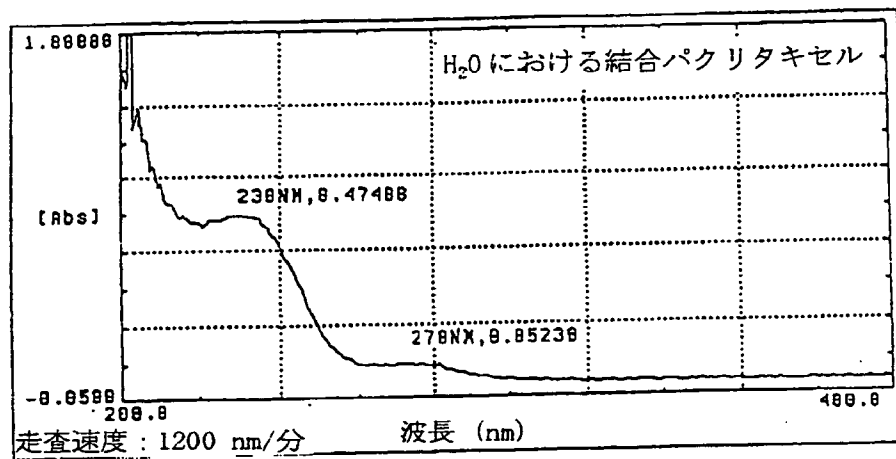


図4A

ポリ (グルタミン酸/アスパラギン酸) -パクリタキセル結合体の UV スキャン結果

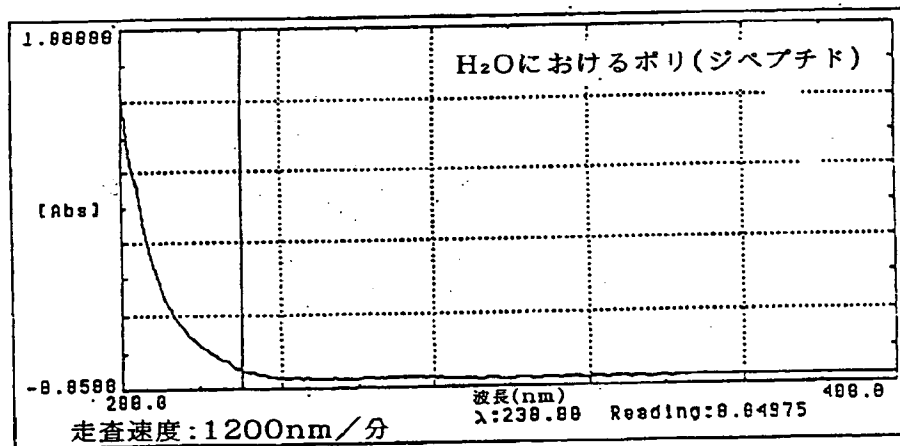
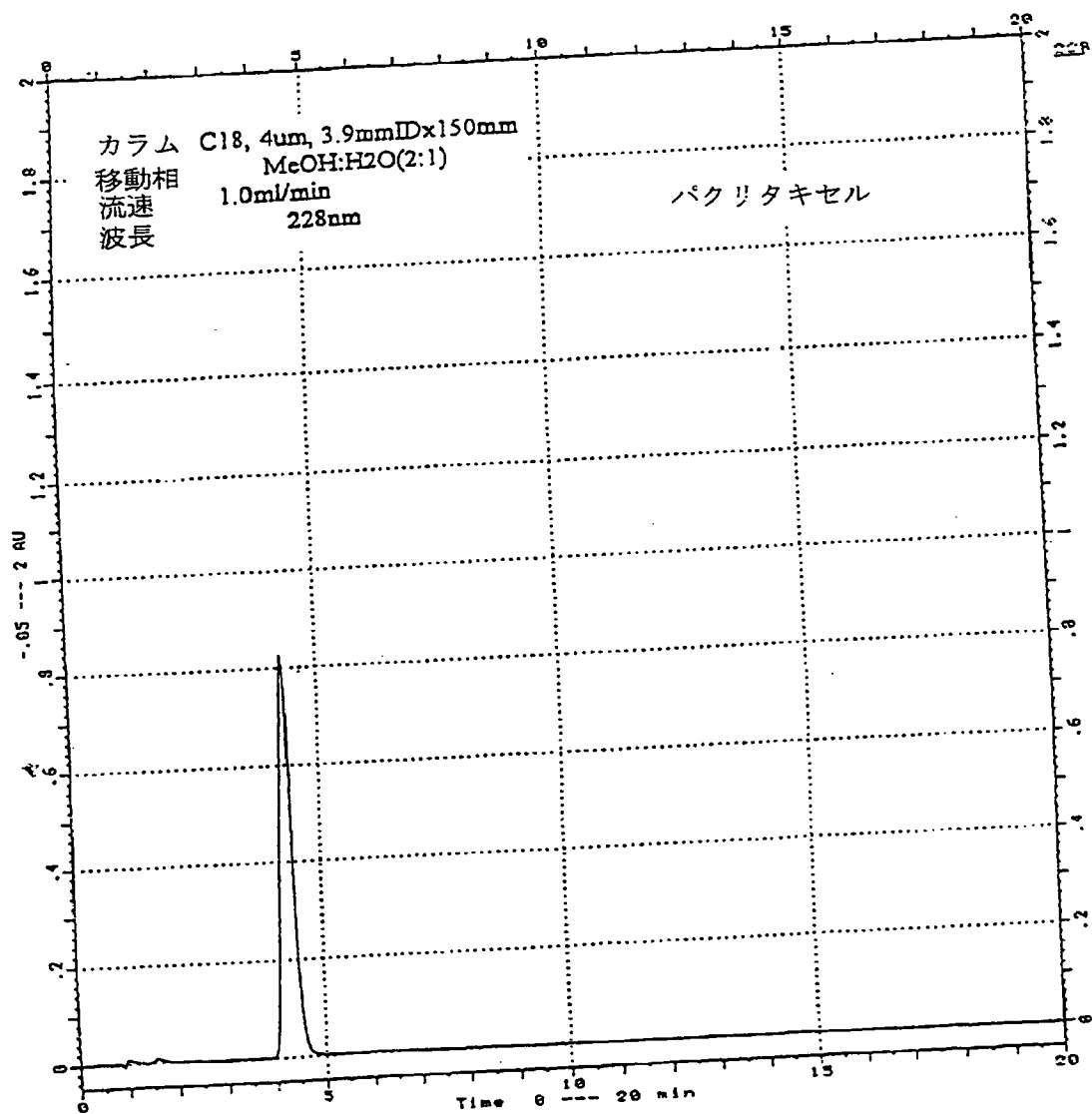


図4B

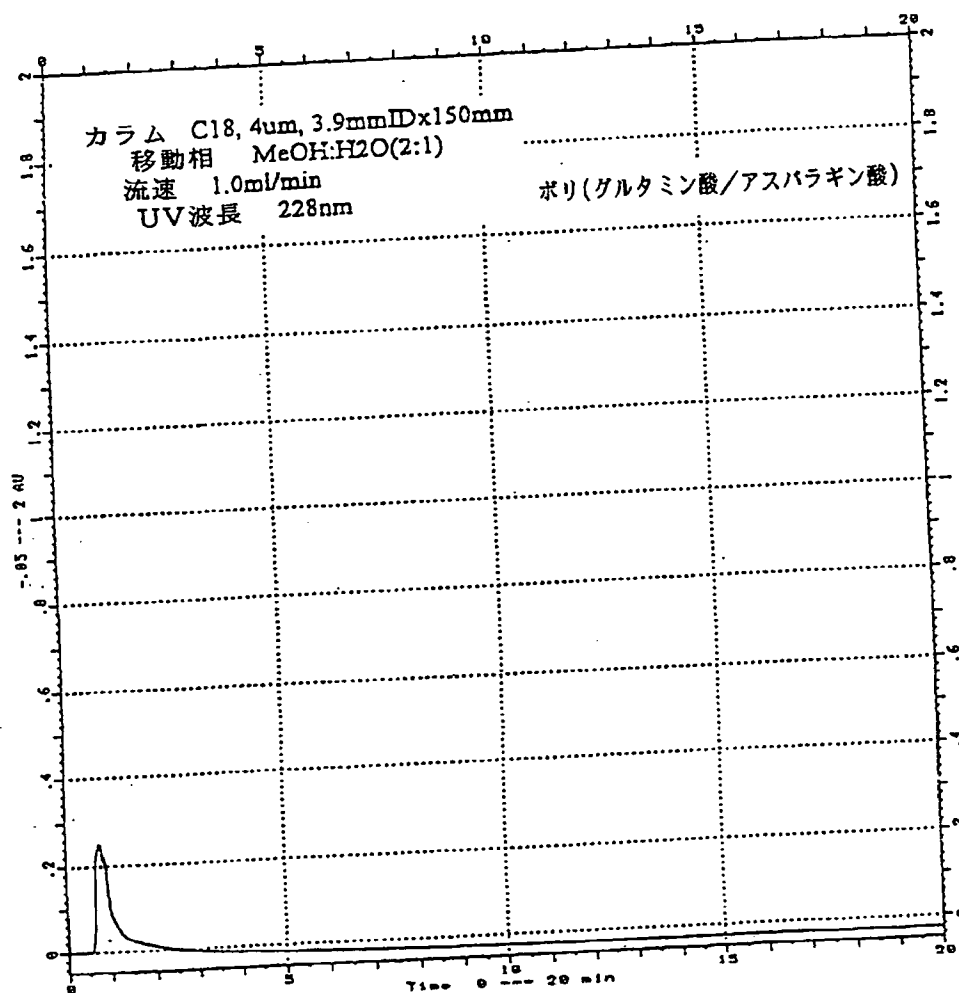
ポリ (グルタミン酸/アスパラギン酸) の UV スキャン結果

【図6】



パクリタキセルのHPLC分析

【図8】



ポリ(グルタミン酸/アスパラギン酸)のHPLC分析

【図9B・C】

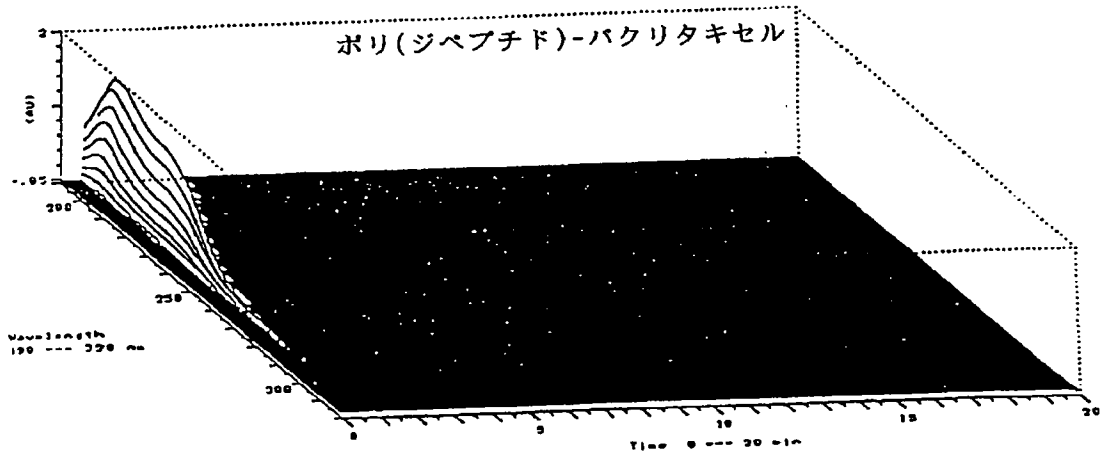


図9B. ポリ(ジペプチド)-バクリタキセル結合体のHPLC 3Dクロマトグラム

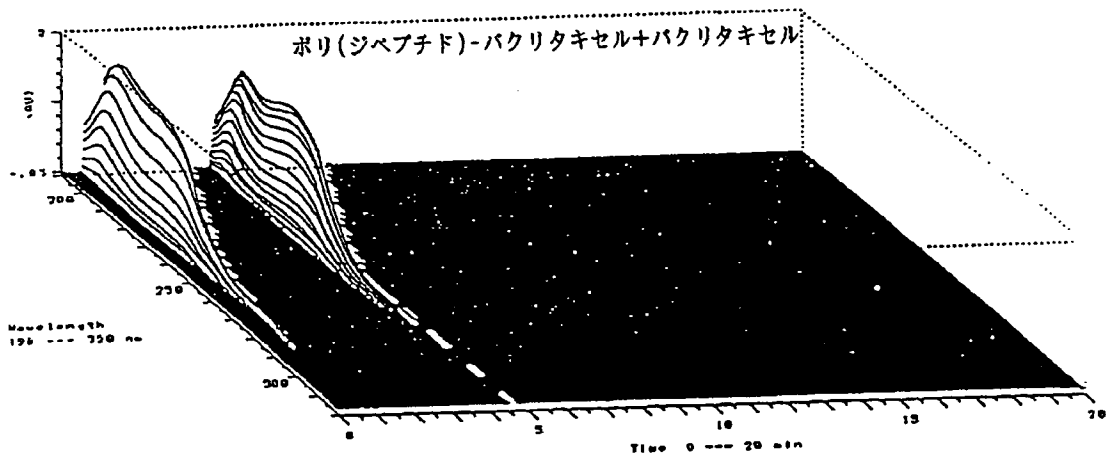


図9C. ポリ(ジペプチド)-バクリタキセルと
非結合バクリタキセルとの混合物のHPLC3Dクロマトグラム

【図9E】

PH 7.4 の 10 mM PBS における、
ポリ (ジペプチド) -パクリタキセル結合体の安定性

$$K = \frac{2.303}{t} \log \frac{C_0}{C} = \frac{2.303}{814 \text{ hrs}} \log \frac{98.623\%}{81.225\%} = 2.3847 \times 10^{-4} \text{ hrs}$$

半減期

$$t_{1/2} = \frac{2.303}{K} \log \frac{C_0}{\frac{C_0}{2}} = \frac{2.303}{K} \log 2 = \frac{0.693}{K} = \frac{0.693}{2.3847 \times 10^{-4} \text{ hrs}} = 2906.0 \text{ hrs} = 121.08 \text{ days}$$

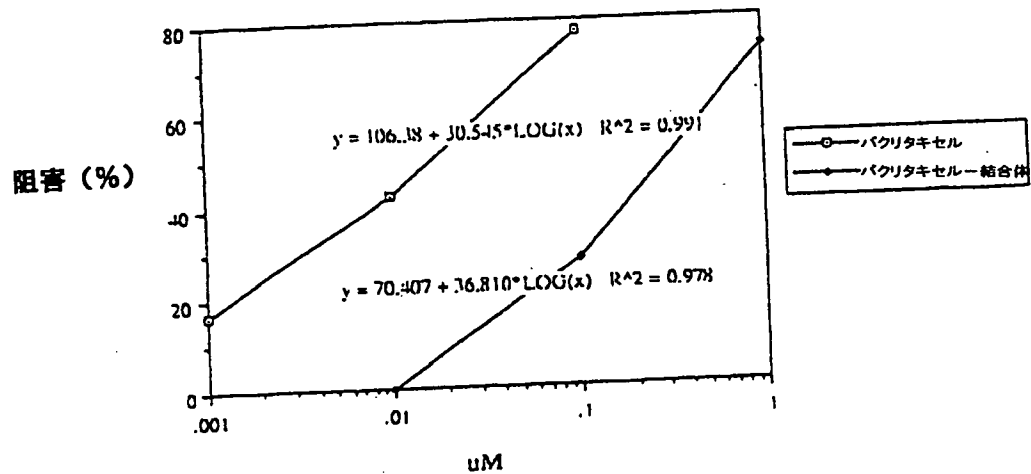
有効期間

$$t_{1/10} = \frac{2.303}{K} \log \frac{100}{10} = \frac{2.303}{K} = \frac{0.1054}{K} = \frac{0.1054}{2.3847 \times 10^{-4} \text{ hrs}} = 441.98 \text{ hrs} = 18.4 \text{ days}$$

ポリ (ジペプチド) -パクリタキセル結合体の有効半減期の決定

【図9G】

ヒト前立腺癌細胞(PC3)に対する、パクリタキセル結合体と
パクリタキセルのインビトロでの効果



$$\text{IC}_{50}(\text{ポリ(ジペプチド)-パクリタキセル}) = 0.279 \mu\text{M}$$

$$\text{IC}_{50}(\text{パクリタキセル}) = 0.0143 \mu\text{M}$$

ヒト前立腺癌細胞(PC3)に対する、ポリ(ジペプチド)-
パクリタキセル結合体および非結合パクリタキセルのインビトロでの
細胞傷害性 (IC_{50})

【図10】

マウス卵巣癌 (OCA-I) に対する、ポリ (ジベズチド) -パクリタキセル

結合体の抗腫瘍活性

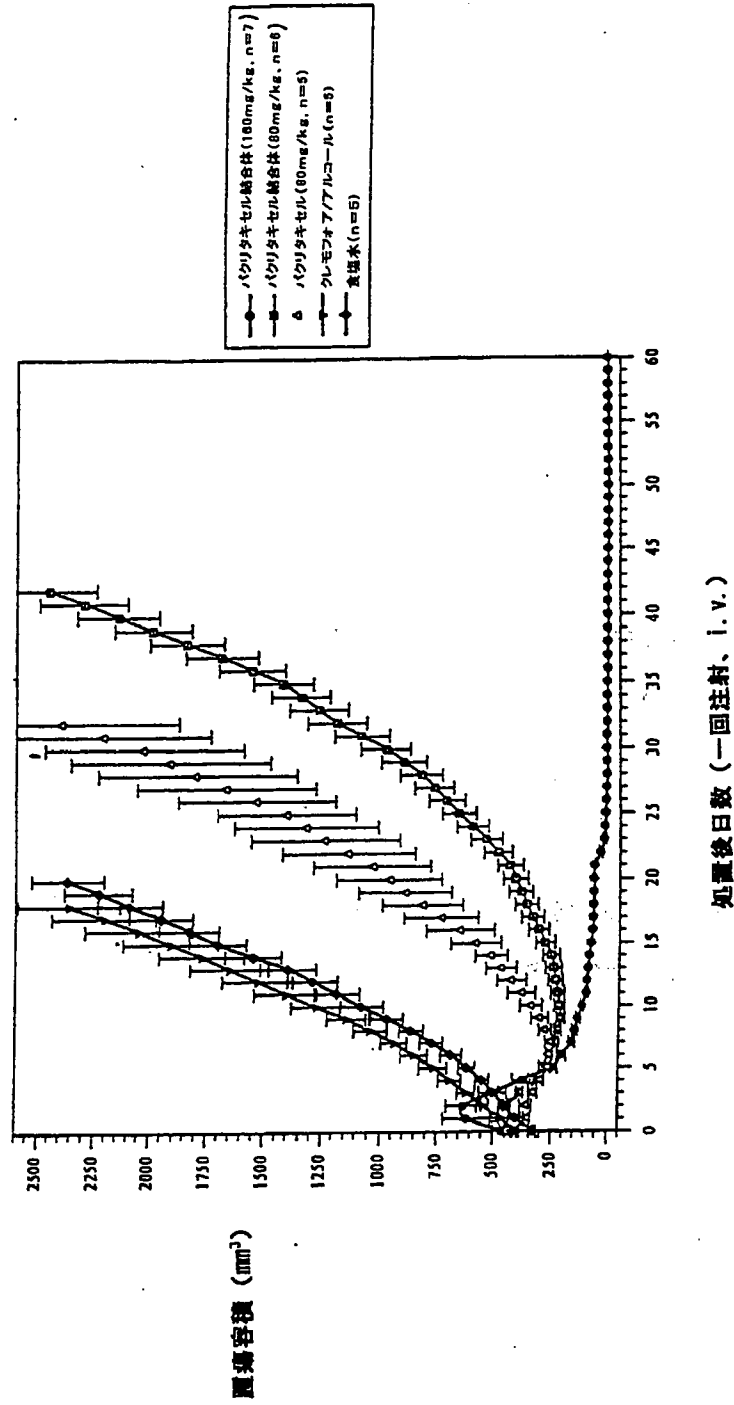


図10. ポリ (ジベズチド) -パクリタキセル結合体および
非結合パクリタキセルの生体内での抗腫瘍活性

【図11】

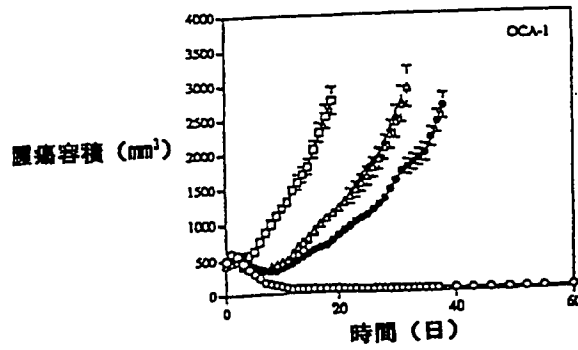


Fig. 2. Antitumor effect of PG-TXL and pectinase on mice bearing ovarian tumor OCA-1 in a single dose. Data are presented as means of tumor volumes; bars, SD. In a mice bearing OCA-1 tumor received injections of: □, PG control (100 mg/kg; $n = 9$); △, pectinase (10 mg/kg; $n = 7$); ○, PG-TXL (10 mg/kg) plus PG (100 mg/kg; $n = 5$); ◇, PG-TXL (10 mg/kg) plus pectinase (10 mg/kg; $n = 6$); or □, PG-TXL (100 mg/kg equivalent pectinase/kg; $n = 26$).

ポリグルタミン酸-パクリタキセル (PG-パクリタキセル) および
パクリタキセルの生体内での抗腫瘍活性

【図12】

ヒト乳癌 (MDA135) をもつヌードマウスに対する、ポリ (ジペプチド)
-パクリタキセル結合体の効果

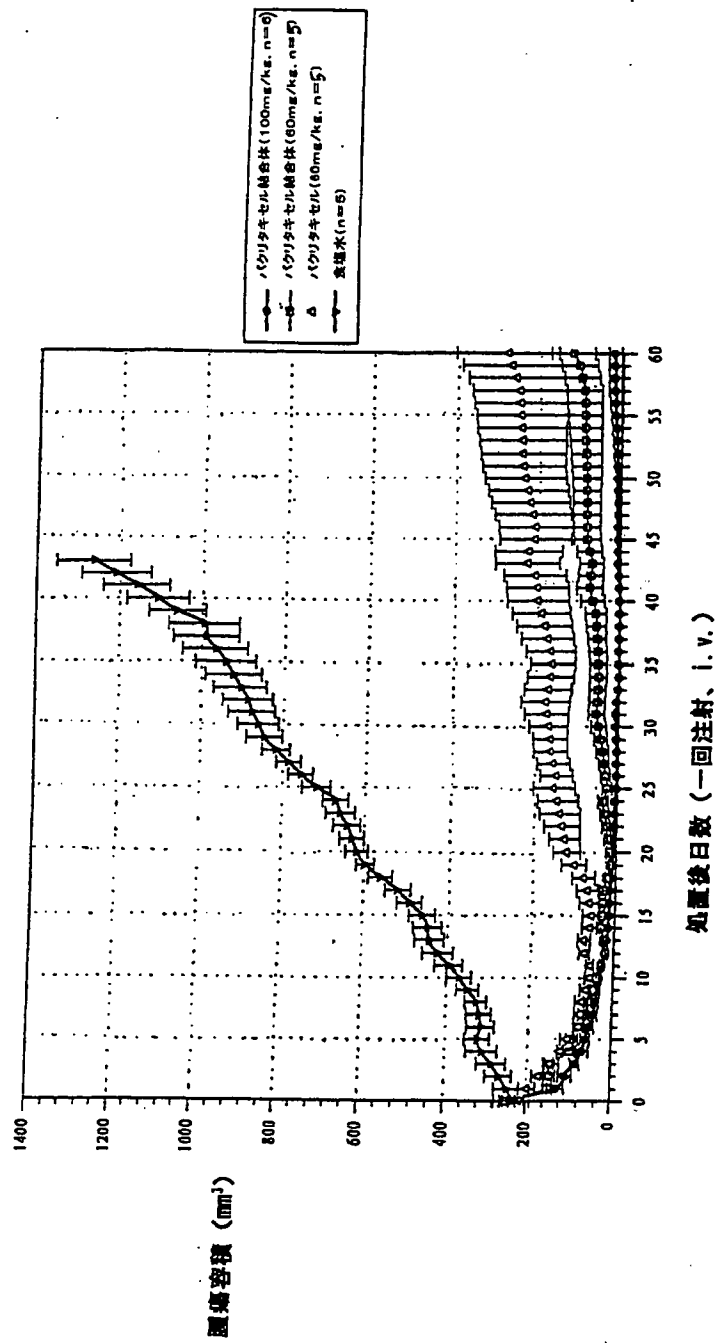


図12. ポリ (ジペプチド) -パクリタキセル結合体および
非結合パクリタキセルの生体内での抗腫瘍活性

【図13A】

ヒト前立腺癌 (MDA PCa 2b) をもつヌードマウスに対する、ポリ (ジペプチド) -
 パクリタキセル結合体の効果

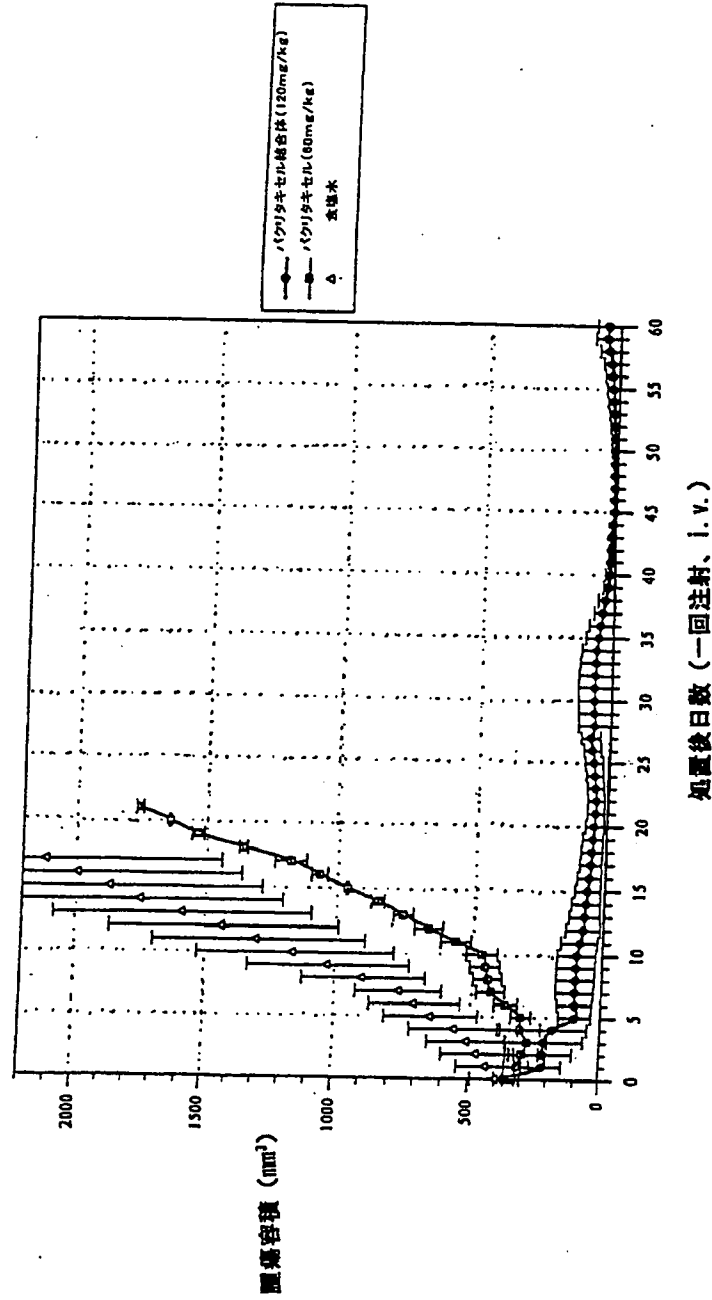


図13A. ポリ (ジペプチド) -パクリタキセル結合体および
 非結合パクリタキセルの生体内での抗腫瘍活性

【図13B】

ヒト前立腺癌 (MDA PCa 2b) をもつヌードマウスに対する、
PG-タキソールとタキソールの効果

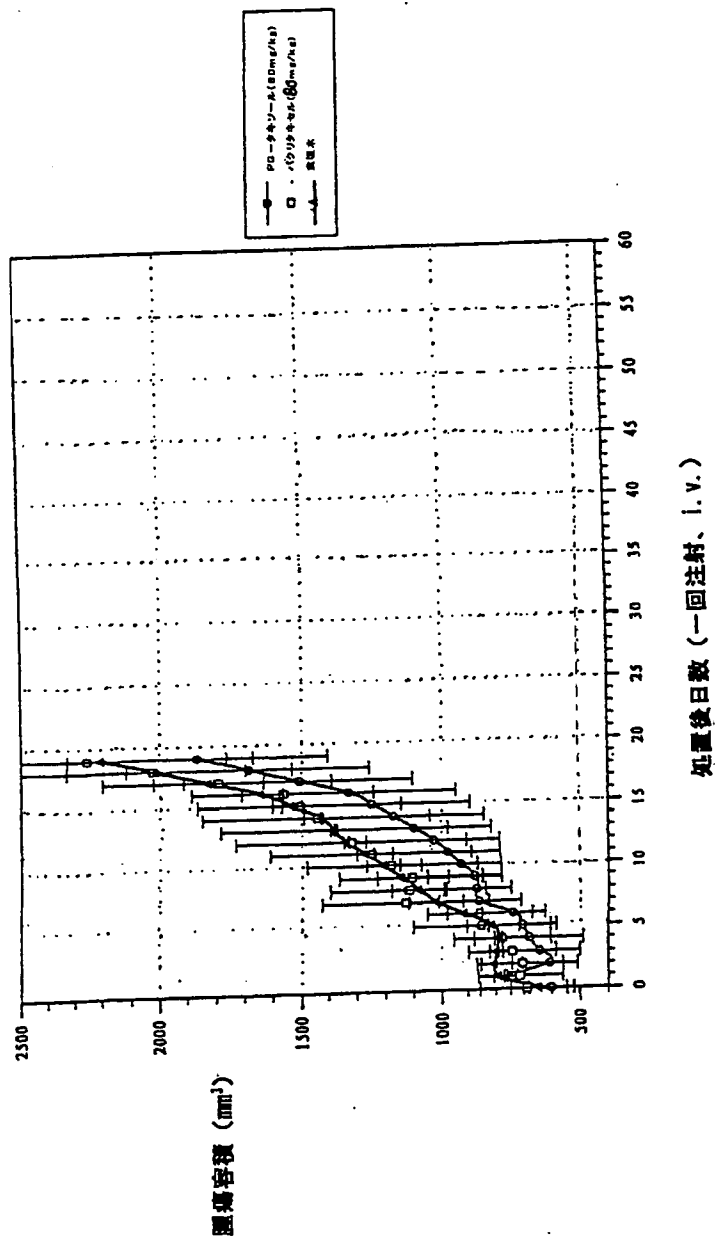
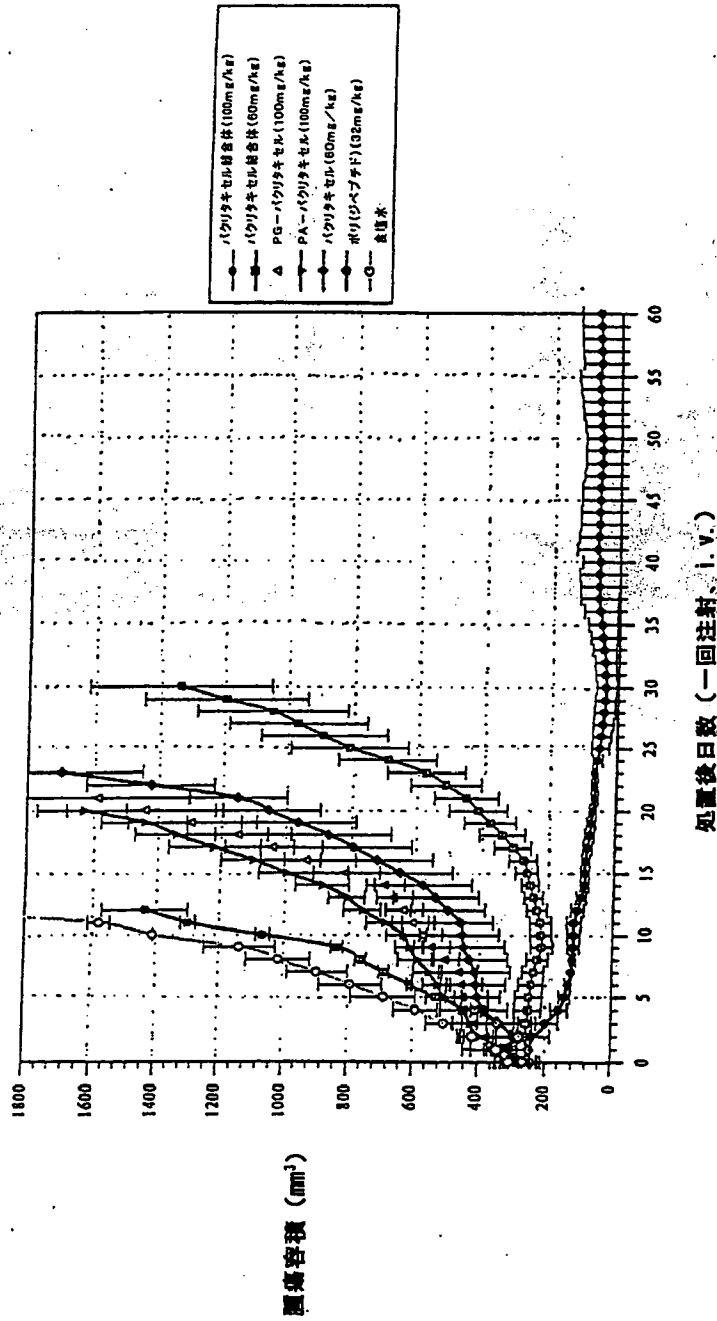


図13B. ポリグルタミン酸-パクリタキセル結合体 (PG-タキソール) および非結合パクリタキセルの生体内での抗腫瘍活性

【図14】

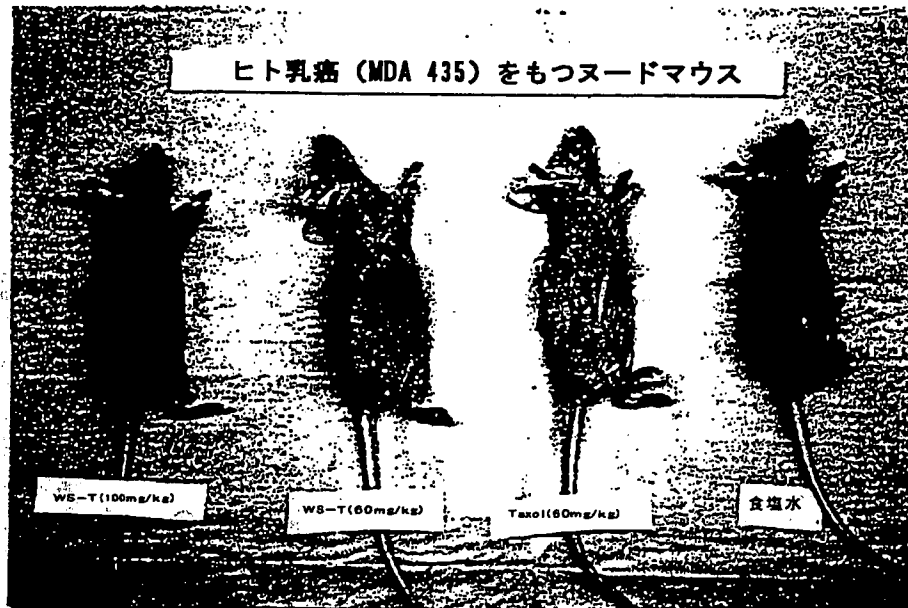
ヒト前立腺癌 (PC3) をもつヌードマウスに対する、ポリ (ジベプチド)
-バクリタキセル結合体の効果



処置後日数 (一回注射、i.v.)

図14. ポリ (ジベプチド) -バクリタキセル結合体、
ポリグルタミン酸-バクリタキセル結合体 (PG-バクリタキセル)、ポリアスパラギ
ン酸-バクリタキセル結合体 (PA-バクリタキセル) および非結合バクリタキセルの
生体内での抗腫瘍活性

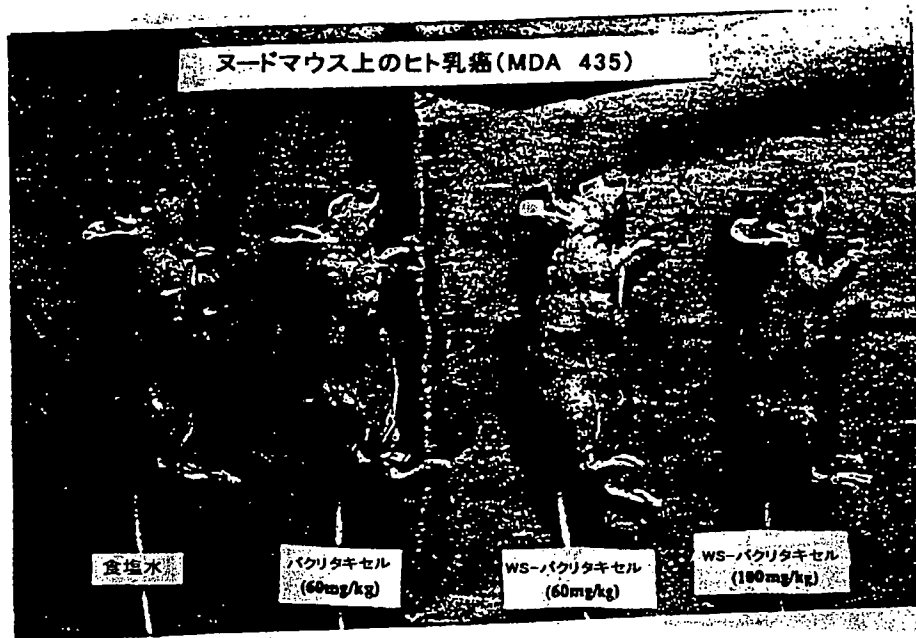
【図15A】



処置後 15 日目のマウス

ヒト乳癌をもつ無胸腺ヌードマウスに対する、ポリ（ジペプチド）-
パクリタキセル結合体（WS-T）および非結合パクリタキセル（Taxol）の
抗腫瘍活性

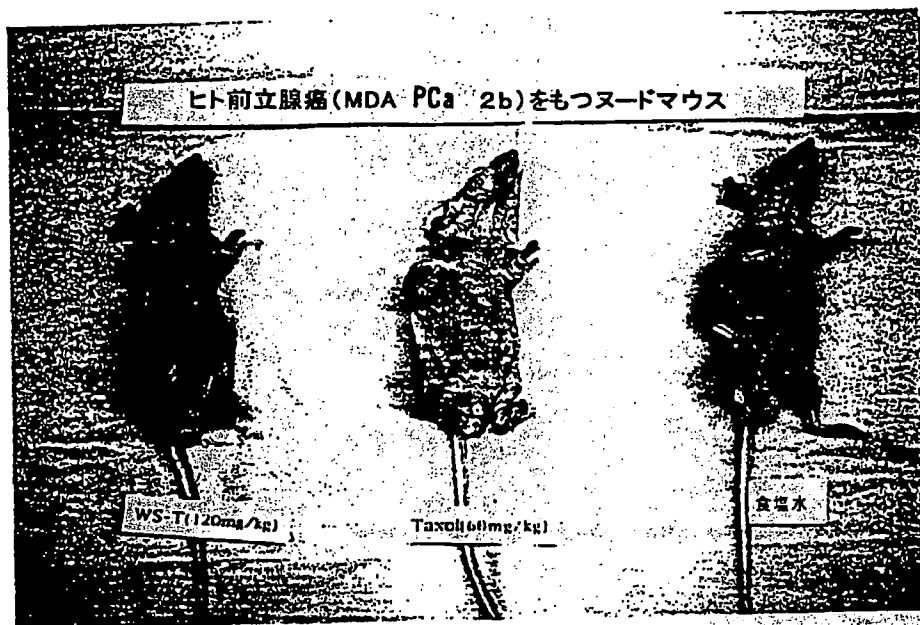
【図15B】



処置後43日目のマウス

ヒト乳癌をもつ無胸腺ヌードマウスに対する、ポリ（ジペプチド）-
パクリタキセル結合体（WS-パクリタキセル）および非結合パクリタキセルの
抗腫瘍活性

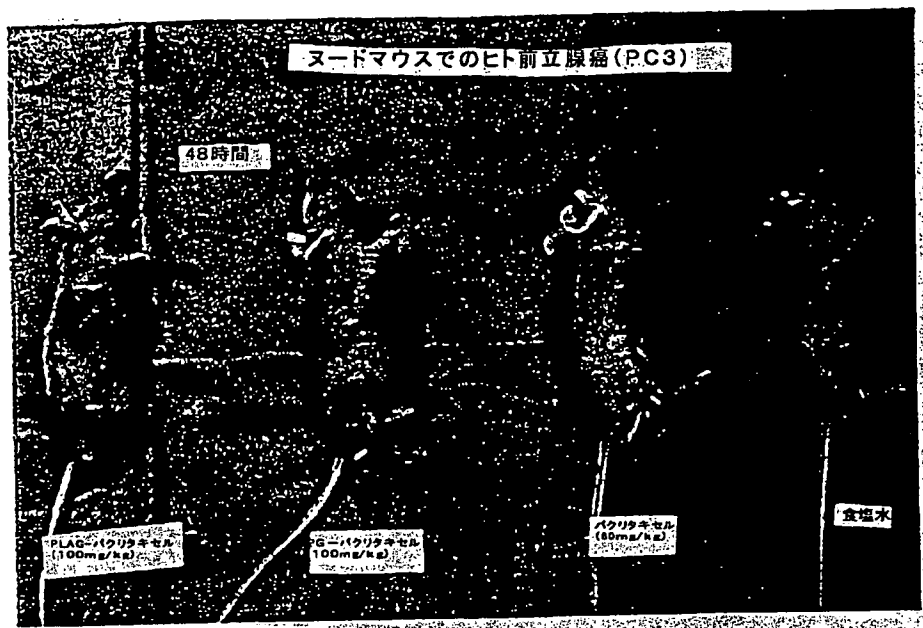
【図16】



処置後15日目のマウス

ヒト前立腺癌をもつ無胸腺ヌードマウスに対する、ポリ（ジペプチド）－
パクリタキセル結合体（WS-T）および非結合パクリタキセル（タキソール）の
抗腫瘍活性

【図17A】



処置48時間のマウス

ヒト前立腺癌をもつ無胸腺ヌードマウスに対する、ポリ(ジペプチド)-パクリタキセル結合体(PLAG-パクリタキセル)、ポリグルタミン酸-パクリタキセル(PG-パクリタキセル)および非結合パクリタキセルの抗腫瘍活性

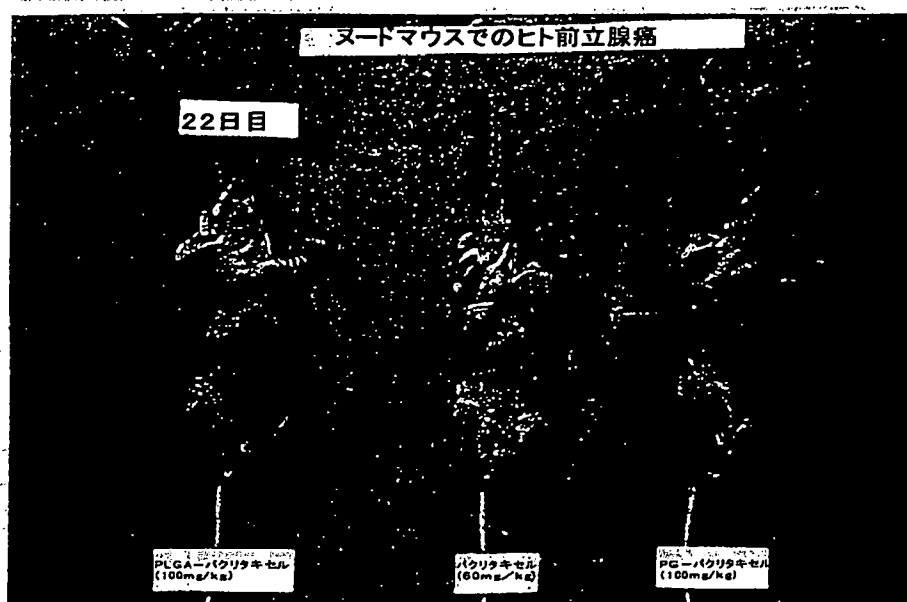
【図17B】



処置後7日目のマウス

ヒト前立腺癌をもつ無胸腺ヌードマウスに対する、ポリ(ジペプチド)－バクリタキセル結合体(PLAG－バクリタキセル)、ポリグルタミン酸－バクリタキセル(PG－バクリタキセル)および非結合バクリタキセルの抗腫瘍活性

【図17C】



処置後22日目のマウス

ヒト前立腺癌をもつ無胸腺ヌードマウスに対する、ポリ(ジペプチド)－パクリタキセル結合体(PLAG－パクリタキセル)、ポリグルタミン酸－パクリタキセル(PG－パクリタキセル)および非結合パクリタキセルの抗腫瘍活性

【國際調查報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US00/09953
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC(7) : A01N 37/18 US CL : 514/2, 12, 21, 772, 773 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) U.S. : 514/2, 12, 21, 772, 773 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched NONE Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) WEST		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	US 5,087,616 A (MYERS et al.) 11 February 1992, see entire document	1-36
Y	US 4,960,790 A (STELLA et al.) 02 October, 1990, see entire document.	1-36
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "B" earlier document published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance, the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance, the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "A" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 14 JULY 2000		Date of mailing of the international search report 15 AUG 2000
Name and mailing address of the ISA/US Commissioner of Patents and Trademarks Box PCT Washington, D.C. 20231 Facsimile No. (703) 305-3230		Authorized officer LAISHIM S. CHANNAYATIALA Telephone No. (703) 308-0196

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1998)*

フロントページの続き

(51) Int. Cl. ⁷	識別記号	F I	ターム (参考)
A 6 1 K 31/475		A 6 1 K 31/475	
31/704		31/704	
31/7064		31/7064	
31/7068		31/7068	
A 6 1 P 1/00		A 6 1 P 1/00	
1/16		1/16	
11/00		11/00	
13/08		13/08	
15/00		15/00	
35/00		35/00	
35/02		35/02	
// C 0 7 K 14/00	Z N A	C 0 7 K 14/00	Z N A
(81)指定国 EP(AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, I T, LU, MC, NL, PT, SE), AE, AG, A L, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR , BY, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, G H, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, J P , KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, M N, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU , SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, UZ, VN, YU, Z A, ZW			
Fターム(参考) 4C076 AA41 CC15 CC16 CC17 CC27			
EE41 FF31			
4C086 AA02 CB09 CB14 EA07 EA10			
EA17 MA02 MA05 NA12 ZA59			
ZA66 ZA81 ZB26 ZB27			
4C206 AA02 FA31 KA05 MA02 MA05			
NA12 ZA59 ZA66 ZA81 ZB26			
ZB27			
4H045 AA10 BA09 BA72 EA20 EA34			
HA05			